

Растения картофеля сорта Симфония с нокаутом по гену вакуолярной инвертазы: применения в селекции и в исследованиях механизмов регуляции углеводного метаболизма

А.А. Егорова^{1*}, Ю.А. Гуреева², А.С. Батов², Н.Е. Костина¹, С.В. Герасимова¹, А.В. Кочетов¹

¹ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия

* egorova@bionet.nsc.ru

Цель: В условиях умеренного климата уборка урожая картофеля производится только один раз в год, поэтому для обеспечения сохранности клубней требуется их хранение при низких температурах (4–6 °С). Однако в данных условиях наблюдается процесс холодового осахаривания, во время которого крахмал гидролизует до редуцирующих сахаров, преимущественно глюкозы и фруктозы. В ходе термической обработки, например, при производстве картофельных чипсов, указанные сахара вступают в реакцию с аминокислотами, что приводит к образованию темного цвета и горького запаха продукции и ухудшает ее товарные качества. В связи с этим актуальной задачей является выведение сортов картофеля, устойчивых к холодовому осахариванию. В настоящее время российские предприятия, специализирующиеся на выпуске картофельных чипсов и картофеля фри, в основном используют зарубежные сорта, что создает потребность в отечественных устойчивых генотипах.

Известно, что вакуолярная инвертаза (*Pain-1*) вносит значительный вклад в холодовое осахаривание, а также играет важную роль в росте и развитии растений. Ранее нами получены линии картофеля сорта Симфония с нокаутом всех четырех аллелей гена *Pain-1*, что привело к снижению уровня глюкозы и фруктозы в клубнях при хранении на холоде и, соответственно, к светлой окраске чипсов, приготовленных из таких клубней. Однако нокаут данного фермента не оказывает влияния на основные ростовые параметры полученных линий [1]. Целью настоящего исследования являлось включение полученных генно-редактированных линий в селекционный процесс, а также изучение влияния нокаута вакуолярной инвертазы на работу других генов углеводного метаболизма в процессе развития растений картофеля.

Материалы и методы: Гибридизация картофеля осуществлялась вручную, в качестве материнских растений использовались нокаутные линии, а сорт Гала – в качестве отцовских. У полученных гибридов проводился анализ на наличие мутаций в сайтах-мишенях и встройки трансгена.

Для исследования экспрессии генов в корневой системе нокаутных линий выделяли суммарную РНК из корней проросточных растений. Уровень транскрипции генов цитоплазматических инвертаз (*NINV1*, *NINV7*, *NINV5*) и сахарозсинтазы (*SUS4*) оценивался методом количественной ПЦР.

Результаты: В результате работы было получено 86 гибридов, из которых 45 не содержали встройки трансгена. У большинства нетрансгенных гибридов выявлены два генно-редактированных аллеля вакуолярной инвертазы, мутации в которых соответствовали мутациям в исходных линиях. В ряде растений обнаружены три или пять аллелей вакуолярной инвертазы, а также идентичные аллели с мутациями. Данные результаты позволяют предположить наличие нарушений расхождения хромосом в мейозе и образование несбалансированных гамет, что характерно для тетраплоидных сортов картофеля. У некоторых трансгенных гибридов выявлены мутации всех четырех аллелей, при этом две из них возникли *de novo*, что указывает на продолжающуюся активность нуклеазы Cas9. Кроме того, анализ экспрессии цитоплазматических инвертаз в корнях нокаутных растений выявил повышение уровня транскрипции генов *SUS4* и *NINV5* по сравнению с контрольной линией.

Выводы: Полученные результаты демонстрируют возможность успешного использования нокаутных по гену *Pain-1* линий в качестве доноров для селекционной работы. В дальнейшем планируется проведение дополнительных тестирований и скрещиваний для выведения нового сорта картофеля, обладающего устойчивостью к холодовому осахариванию. Кроме того, выявленное повышение экспрессии генов *SUS4* и *NINV5* в корнях нокаутных растений позволяет предположить наличие компенсаторных механизмов, минимизирующих влияние нокаута гена *Pain-1* на ростовые характеристики картофеля.

Финансирование: Работы по поддержанию и генотипированию коллекции поддерживаются Курчатовским геномным центром ИЦиГ СО РАН, проекты 075-15-2019-1662 и 075-15-2025-516. Исследования механизмов регуляции углеводного метаболизма картофеля поддерживаются бюджетным проектом FWNR-2025-0020.

Список литературы

- 1 Egorova A.A., Zykova T.E., Kostina N.E. et al. Reduction in Cold-Induced Sweetening by Cas9 Endonuclease-Mediated Knockout of the POTATO VACUOLAR INVERTASE 1 Gene in the Cultivar ‘Symfonia’. *Potato Res.* 2024. doi 10.1007/s11540-024-09800-6